

氏 名	まつざわ しゅん 松澤 峻
学 位 の 種 類	博 士 (工学)
学 位 記 番 号	富生命博甲第 109 号
学位授与年月日	平成 31 年 3 月 26 日
専 攻 名	生体情報システム科学専攻
学位授与の要件	富山大学学位規則第 3 条第 3 項該当
学 位 論 文 題 目	Guinea pig immunoglobulin V _H and V _L repertoire analysis for a novel guinea pig monoclonal antibody platform (モルモットモノクローナル抗体の開発のためのモルモ ット免疫グロブリン遺伝子のレパトア解析)
論文審査委員	
(主査)	教授 磯部 正治
(副査)	教授 黒澤 信幸
(副査)	教授 井川 善也
指 導 教 員	教授 黒澤 信幸

学位論文内容要旨

(ふりがな) 氏 名 松澤 峻 (まつざわ しゅん)	男
<p data-bbox="229 394 1461 618">題目 Guinea pig immunoglobulin V_H and V_L repertoire analysis for a novel guinea pig monoclonal antibody platform モルモットモノクローナル抗体の開発のためのモルモット免疫グロブリン遺伝子のレパトア解析</p> <p data-bbox="229 663 1461 931">モルモット (<i>Cavia porcellus</i>) は、テンジクネズミ属に分類される齧歯類の一種で、温和な性格で飼育が簡単であること、ビタミンCを合成できないこと、薬物に対する感度が高いこと、また結核やサイトメガロウイルスにおいてヒトと共通した感染機構を有するなど、その特異的な生理学的特性により広く研究に用いられている。更にモルモットは、進化的にマウスやラットと離れているため、これらの動物を用いて作成できない種々のヒト抗原に対するポリクローナル抗体を作製する上でも重要な免疫動物として利用されている。</p> <p data-bbox="229 943 1461 1379">我々のグループは、セルソーターを用いて抗原特異的な抗体産生細胞を免疫動物から単離し、これより抗体遺伝子をクローン化することで、効率的にモルモットからモノクローナル抗体を作製する手法を開発した。取得されたモルモットモノクローナル抗体は高い親和性と特異性を示したことから、モルモットモノクローナル抗体の研究、診断、治療薬開発への応用が期待されている。近年、次世代シーケンサーを用いたモルモットゲノム解析が行われ、その結果モルモットゲノム上の抗体可変領域遺伝子断片の数が哺乳類において比較的多いこと、多数の偽遺伝子が存在することが明らかにされた。哺乳動物の抗体多様性獲得機構はヒトやマウスで認められるV(D)J 遺伝子再構成とニワトリやウサギで認められる偽遺伝子を用いた遺伝子変換の二つに大別されるが、モルモットがどちらの機構を用いて抗体の多様性を獲得しているか明らかにされていない。</p> <p data-bbox="229 1391 1461 1794">私はモルモットの抗体多様性獲得機構を明らかにするため、ナイーブ B 細胞及び形質細胞が発現する抗体可変領域遺伝子の網羅的解析を次世代シーケンサーを用いて行った。合計約 16000 リードの全長重鎖可変領域(V_H)、軽鎖κ鎖可変領域(V_κ)及び軽鎖λ鎖可変領域(V_λ) 遺伝子断片の使用頻度並びに変異率を、モルモットゲノム抗体遺伝子に対して算出した。その結果、ゲノム可変領域遺伝子断片の約7割が発現しV(D)J 遺伝子再構成に使用されていること、特定のV 遺伝子断片が優先的に発現していること、形質細胞において相補性決定領域に変異が蓄積していることが明らかになった。以上の結果より、モルモット抗体の可変領域遺伝子多様性は、多数の可変領域遺伝子断片を用いたV(D)J 遺伝子再構成と体細胞高頻度変異によって生じることが明らかになった。</p> <p data-bbox="229 1805 1461 1980">モルモットモノクローナル抗体取得法の開発は参考論文の題目「Novel method for the high-throughput production of phosphorylation site-specific monoclonal antibodies」に記載し、モルモット免疫グロブリン遺伝子のレパトア解析は関連論文の題目「Guinea pig immunoglobulin V_H and V_L naïve repertoire analysis」に記載した。</p>	

【学位論文審査結果の要旨】

当学位論文審査委員会は、標記の博士学位申請論文を詳細に査読し、平成 31 年 2 月 4 日(火)に博士学位論文公聴会を開催し、質疑応答と共に論文の審査を行った。本博士学位申請論文は、モルモットの体内で発現する抗体可変領域の多様性について世界で初めて解析したものである。単一抗体産生細胞由来抗体迅速単離システムを用いて、抗原特異的なモルモットモノクローナル抗体(mAb)を種々取得し可変領域の多様性を解析すると共に、モルモットの脾臓やリンパ節で発現する抗体の多様性についても大規模シーケンスにより解析し、抗体の多様性獲得機構とゲノム上の可変領域セグメントとの関係を明らかにした。モルモットは古くから免疫学や感染症の研究に利用されてきたにも拘わらず、ハイブリドーマ法が適用できず、mAb の開発が遅れていた。本研究結果は、抗体取得におけるモルモットの重要性を世界に知らせ、PLOS ONE 誌にも掲載済みであることから、博士論文として十分な成果であると判断される。